

Sugárzó izotópok alkalmazásának néhány példája a biokémiai kutatásban

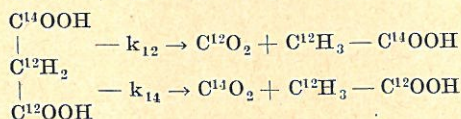
Az izotópja jelenségét 1905-ben fedezte fel Soddy. Rájött arra, hogy a rád óaktív bomlás során keletkező, eltérő atomsúlyú rádium B és D, valamint a tórium B és D kémiai szempontból a rádióaktív bomlás végtermékével, a nem sugárzó ólommal azonosan viselkedik. Később, 1920 körül rájöttek arra is, hogy az ismert 92 természetes elem közül legalább 67 különféle atomsúlyú izotópok elegye, így pl. a kálium 39,096-os atomsúlya úgy alakul ki, hogy természetes előfordulásaiban — meglepő állandósággal — kerekén

93,44%-nyi 39-es atomsúlyú K^{39} -ből,
0,011%-nyi 40-es atomsúlyú K^{40} -ból és
6,54 %-nyi 41-es atomsúlyú K^{41} -ből áll.

Az első sugárzó izotópos kísérletet növény-fiziológiai kutatásoknál (a sugárzó Pb-ot) Hevesy [17] használta fel 1923-ban. Az izotópos kutatások igazi lehetőségei azonban csak akkor nyíltak meg, amikor Joliot-Curie 1934-ben megindult kísérletei alapján sikerült egyrészt az élő szervezetekben általánosan elterjedt és alapvető szerepet játszó különféle elemek (C, Ca, O, P, stb.) sugárzó izotópjait mesterségesen, viszonylag olcsón előállítani, másrészt pedig a különféle természetes és mesterséges, nem sugárzó izotópok (N, D, H stb.) elkülönítésére aránylag egyszerű módszereket kidolgozni.

Az izotópok alkalmazásának alapvető feltétele, hogy a „mesterséges” izotóp kémiai, fizikai és biológiai szempontból a „természetes” izotóphoz minél jobban hasonlítson, ill. azzal gyakorlatilag azonos legyen. Az izotópos kutatások első idejében ezt a feltételt nem vették kellőleg tekintetbe, s így több esetben téves következtetésre jutottak. Ma már tudjuk, hogy a sugárzó izotópoknál ez a különbség abban nyilvánul meg, hogy az izotóp atomok sugárzása elsősorban ionizáló hatást fejt ki, mégpedig már aránylag egészen csekély koncentrációban is, s így befolyásolja a szövetek, sejtek életműködését. A hatás aránytalanul nagyobb, mint a röntgensugárzás hatása, mert míg a röntgensugarakat a szervezetek felületi rétegei elnyelik, addig az izotópsugárzás a sejtek belsejében hat. A nem sugárzó izotópoknál az atomsúlykülönbségek jóval nagyobb befolyást gyakorolnak az atomok, ill. ionok

(és a nehezebb izotópot tartalmazó vegyületek) viselkedésére, mint kezdetben hitték. Legnagyobb az atomsúly eltérése a hidrogén és izotópjai között. A H^1 , a H^2 (D) és a H^3 (T) atomsúlya úgy aránylik egymáshoz, mint 1:2:3, vagyis a deutérium atomsúlya 100, a tríciumé 200%-kal nagyobb, mint a hidrogéné. A nehézvízzel végzett kísérletekből levont következtetéseket ezért bizonyos fenntartással kell fogadnunk, annál inkább, mert Barnes és Jahn [2] már 1934-ben kimutatta, hogy a nehézvíz toxikus hatású az élő szervezetekre. A hidrogén után legnagyobb az atomsúlyeltérés a karbonium és az oxigén izotópjai közt. A C^{14} atomsúlya 16,6%-kal nagyobb, mint a C^{12} -é, az O^{18} -é pedig 12,5%-kal nagyobb, mint az O^{16} -é. Az eltérést ezeknél az izotópoknál is kimutatták. Így a malonsav enzimes dekarboxilálásánál az izotópok atomsúlybeli különbsége abban nyilvánul meg, hogy a C^{12} — C^{12}



kötés bomlása gyorsabb, mint a C^{14} — C^{12} kötés bomlása, s a k_{12} reakciósebesség konstans nagyobb, mint a k_{14} konstans ($k_{12}:k_{14}=1,12$), aminek az lesz a következménye, hogy a C^{14} relatív koncentrációja az ecetsavban nő, a CO_2 -ban viszont csökken. Teljesen hasonló a helyzet a karbamid ureázos bontásánál is, a C^{14} -et tartalmazó karbamid lassabban bomlik, mint a csak C^{12} -t tartalmazó karbamid. Általánosságban azt mondhatjuk, hogy intermolekuláris reakciókban a C^{12} gyorsabban reagál, mint a C^{14} . Ha már egyetlen enzim esetében is ilyen módon érvényesül az atomsúlykülönbség hatása, érthető, hogy a rendkívül bonyolult koordinációkkal működő élő szervezetek talán még érzékenyebben reagálnak az atomsúlykülönbségekre. A természetes szénelőfordulásokban, így a levegő CO_2 -jában is, a C^{12} aránya kerek 98,9%, a C^{13} -é pedig 1,1%. Trofimov kimutatta (1952), hogy a zöld növények a fotoszintézisnél a kétféle C-atom közt differenciálnak, a kisebb atomsúlyú, tehát mozgékonyabb C^{12} -t szelektálják, s így a növényi anyag C^{12} -ben gazdagabb, mint a levegő CO_2 -ja. Ezzel szemben az oldhatatlan csapadékok keletkezésénél,

pl. CaCO_3 előállításánál olyan izotópkeverékből, amely C^{12} mellett C^{13} -at és C^{14} -et is tartalmaz, a csapadékokban elsősorban a C^{14} , de nemkülönben a C^{13} relatív koncentrációja is megnő.

A levegőben az oxigénizotópok aránya kerekén a következő. O^{16} -ból 99,76%, O^{17} -ből 0,04% és O^{18} -ból 0,20%. Rabinovitch [35] (1945) kimutatta, hogy a növények légzésükor ugyancsak a könnyebb izotópokat válogatják ki, így elsősorban 16-os atomsúlyút. A szabad levegőben tehát a nehezebb izotópok lassanlassan koncentrálnak, s Rabinovitch [35] ezzel magyarázza azt a megállapítást, hogy a légkör O-tartalma $7,5 \cdot 10^{-5}$ atomsúlyegységgel nehezebb, mint az óceánok vizének O-tartalma. Ez az eltérés a földünk történetének számtalan növénygenerációja válogató munkája folytán jött létre. Hasonló kiválogatással magyarázható Fenn megállapítása (1942), amely szerint az emberi szervezet a nehezebb K^{41} -es izotópból kerek 2%-kal kevesebbet tartalmaz, mint a természetes, élettelen előfordulások, pl. a kálisórétegek (a K^{40} atomsúlya 2,56%-kal nagyobb, mint a K^{39} -é).

Az izotópok felhasználhatóságánál igen lényeges limitáló tényező az izotópok bomlási, ill. átalakulási ideje, melynek elfogadott mértéke az ún. felezési idő. Ha a sugárzó anyag megbomlása túl lassú, úgy igen nagy koncentrációban kell alkalmazni, hogy kimutatható legyen kellő pontossággal, ill. egészen speciális kísérleti beállításra, ill. mérőberendezésekre van szükség. Ha a bomlás túl gyors, akkor a kísérlet ideje csak rövid lehet, s ezenfelül az intenzív sugárzás esetleges egészen súlyos, patológiás hatásokat idézhet elő az élő szervezetben. Ezen túlmenően a szállításnál, tárolásnál az „aktivitás” gyorsan csökken, ezért az ilyen anyagot lehetőleg mindig frissen kell a felhasznált vegyületekbe beépíteni. Néhány mesterséges sugárzó izotóp felezési idejét az alábbi összeállításban adjuk.

Elem	Felezési idő	Kibocsátott sugárzás	Bomlási termék
C^{11}	21 perc	e^+	B^{11}
N^{13}	9,9 „	„	C^{13}
O^{15}	2,1 „	„	N^{15}
Na^{24}	15 óra	e^-	Mg^{24}
Mg^{27}	10 perc	„	Al^{27}
P^{32}	14,3 nap	„	S^{32}
S^{35}	88 „	„	Cl^{35}
K^{42}	12,4 óra	„	Ca^{42}
Ca^{45}	180 nap	„	Sc^{45}
Mn^{56}	2,6 óra	„	Fe^{56}
Fe^{59}	57 nap	„	Co^{59}
Cu^{62}	9,9 perc	e^+	Ni^{62}
Zn^{63}	38,3 „	„	Cu^{63}

A felezési időn túlmenően a finomabb vizsgálatoknál talán azt is tekintetbe kell venni — elsősorban a rendkívül nagy biológiai aktivitású mikroelemeknél — hogy a bomlási termék

olyan elem lehet, amelynek fiziológiai hatása a sejten belül éppen ellentétes, mint a bevitt sugárzó anyagé, s így az ionegyensúly eltolódása jöhet létre. A felezési idő a magyarázata annak, hogy a biológiai kísérletekben, s a mezőgazdasági irányú kísérletekben különösen a rendkívül kedvező felezési idejű P^{32} -es izotópot alkalmazzák leggyakrabban. Ez az izotóp felezési ideje révén nemcsak a szállítást, de a tárolást is bírja. Magyarországon a saját atomreaktorunk elkészítéséig a Szovjetuniótól kapott sugárzó anyagokkal dolgozunk.

Az izotópos kutatások általános biológiai jelentősége

Analitikai módszereink a különféle mikromódszerek, elsősorban a papírkromatográfiás módszerek bevezetésével rendkívül sokat nyertek érzékenységekben. Ennek ellenére csak kevés olyan eljárás van, amellyel 10^{12} , azaz egybillió molekulánál kevesebbet ki tudunk mutatni. Minthogy 1 g molban $6,06 \cdot 10^{23}$ molekula van (Avogadro-szám), a fenti, analitikailag általában még megfogható érték a g molnyi mennyiségnek $10^{23} : 10^{12} = 10^{11}$, azaz $1/10^{11}$ -ed része. A sugárzó izotópok alkalmazásával az érzékenység 10^6 molekulára nő, azaz a fenti érték egy-milliomod részére. Ha pl. az ecetsavat kell valamilyen vizsgálatban kimutatnunk, akkor a kép a következőképpen alakul. Egy ecetsavmolekula súlya kerek 10^{-16} g. Az átlagos finom analitikai módszerrel 10^{12} molekulát, azaz 10^{-4} g-t tudunk mérni, míg sugárzó izotópos eljárás ennek milliomod részét, azaz már 10^{-10} g-t is.

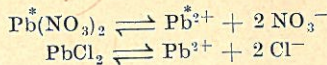
A módszerek ilyen érzékenységnövekedésének különösen a biológiai vizsgálatokban nagy a jelentősége, főleg olyan anyagcsere-folyamatok vizsgálatánál, ahol egyes közbeeső termékek kimutatása azért okozott szinte megoldhatatlan nehézséget, mert a közbeeső, azonnal átalakuló anyag koncentrációja nagyon kicsiny. A koncentráció jelentőségét igen jól megvilágítja a vitaminok és hormonok klasszikus példája. A vitaminok felfedezésére azért került olyan sokára sor, mert azok az állati, ill. emberi szervezetben csak igen csekély koncentrációban fordulnak elő. Hiszen a legtöbb vitaminból az ember napi igénye mindössze 1–2 mg, vagy még ennél is jóval kevesebb, míg a fő táplálékanyagokból 700–800 g szárazanyagot kitevő mennyiség szükséges. Nem csoda, hogy analitikai eljárásaink a közelmúltban aránylag még annyira durva módszerei mellett ezek a kis mennyiségek sokáig elkerülték a kutatók figyelmét. Talán még szemléltetőbb a növényi hormonok kutatása során felmerült igen sok nehézség. Kögl és munkatársai a zab koleoptilján végzett vizsgálatukkal megállapították, hogy a növények növekedését a koleoptilesúcsban termelt s általa „auxin”-nak elnevezett anyag irányítja. Hormonját izolálандó, Kögl 100 000 kukorica-koleoptilesúcsot dolgozott fel, eredmény nél-

kül. A „biotin” nevű hormon előállításához Kögl 5 q tojás sárgáját dolgozta fel, s ebből az óriási anyagmennyiségből is mindössze 1,1 mg kristályos hormont tudott kapni.

Az izotóp kutatások jelentőségét talán néhány általános probléma rövid tárgyalásával érzékeltehetjük. Az emlőszállatok normális vércukorszintje általában kerek 0,1%, amelynek állandóságát az állati szervezet meglehetősen bonyolult kiegyensúlyozó rendszerrel igyekszik fenntartani. Ha már most a cukormolekulák útját, a cukoranyagcsere mechanizmusát tanulmányozni akarjuk, úgy nagy mennyiségű cukor adagolásával a vér cukorszintjét olyan mértékben kell emelni, ami már a szervezet cukorral való egyoldali túlterhelésére vezet, tehát afiziológias viszonyokat kell létrehozni. Ezzel szemben elegendő, ha a szervezetbe aránylag nagyon csekély mennyiségű „jelzett” (sugárzó) C-atomot tartalmazó cukormolekulát viszünk be, hogy a cukor útját és átalakulási folyamatait figyelemmel kísérhessük. Vagy vegyünk egy másik példát a növényi szénhidrátanyagcsere területéről. A moszkvai Bach-intézet kutatói bebizonyították, hogy a gabonamagvak jarovizációja enzimszerűen működésének eltolódásával jár. Oparin és Jencsenko (1948) kísérletei szerint az őszi búzáknak magvának szahharáz-enzimrendszerében a szintézises, a tavaszi búzában pedig a hidrolitosis folyamat a domináló. Az őszi búza jarovizációjával az enzimszerű működése a szintetikus irányból a hidrolitosis irányba, tehát a tavaszi búzára jellemző irányba tolódik el. Kísérleteiknél a búza csíranövényekbe vákuummal 0,1 molos szahharózt, ill. 0,2 molos inverteukrot vittek be. A Mothes által kezdeményezett és Kurszanov [22] által tökéletesített vákuuminfiltrációs eljárás lényeges előrehaladást jelentett — elsősorban a növényi enzimkutatásokban — a régi, szövet-homogenizációs módszerrel szemben, mert a szövetek homogenizálásánál a sejtszerkezet felbontásával az enzimszerek koordináltsága megszűnik, s így sok esetben kétséges, hogy valamely enzim folyamat mennyire tükrözi a növény normális életjelenségeit. Ez a módszer végeredményben az állati fiziológiai, ill. biokémiai kutatásokban már régen alkalmazott szerv-átaramoltatási eljárásnak értelemszerű alkalmazása volt, hisz megtartotta a sejten az enzimgócok térbeli, stabil elrendeződését, s ezzel az enzimes folyamatok egymásutániságát. Ennek az eljárásnak egyik elvi hibája azonban az, hogy a szövetek hosszabb-rövidebb időre anaerob körülmények közé kerülnek, az eljárás tehát bizonyos mértékig afiziológias; annál is inkább, mert ha szignifikáns eredményeket akarunk kapni, úgy abnormisan magas koncentrációval kell dolgoznunk. Oparin 3,6%-os cukoroldatot infiltrált, az enzimszereket, ill. az egész enzimplánc abnormis megterhelése kell tehát jelenkezzen. Ez a módszer tehát alapelvek megállapítására alkalmas, részletkérdések tanul-

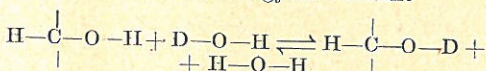
mányozására azonban már nem. Ezzel szemben „jelzett” cukormolekulákból már rendkívül csekély mennyiség is elegendő — olyan kevés is, ami a vegyületek normális arányát gyakorlatilag egyáltalán nem változtatja meg — s részletekbe menő tájékozódást kaphatunk mégis a cukrok átalakulásáról.

Mint ismeretes, Arrhenius ionelmélete évtizedeken keresztül vitatott volt, míg általánosan el nem fogadták. Ha abban az időben a sugárzó izotópos módszereket ismerték volna, könnyű lett volna Arrhenius álláspontja helyességéről meggyőződni. Ha meloy vízben sugárzó Pb-ot tartalmazó $Pb(NO_3)_2$ -ot és nem sugárzó Pb-ot tartalmazó $PbCl_2$ -ot oldunk, s oldatunkat kihűlni hagyjuk, úgy a $PbCl_2$ nagyrészt kikristályosodik. Minthogy az ionelmélet értelmében az ionok egymástól függetlenül disszociálnak az alábbi egyenletek szerint:

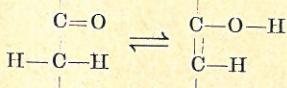


a sugárzó Pb-nak az oldatban maradt $Pb(NO_3)_2$ és a kikristályosodott $PbCl_2$ közt arányosan kell eloszlania. A vizsgálatok ezt a tényt meg is állapították (a valóságban Trofimov vizsgálatai alapján azt kell mondanunk, hogy a csapadékban a sugárzó anyag relatív mennyisége kissé nagyobb). A többé-kevésbé jól disszociáló szerves és szerves elektrolitoknál a disszociáció függetlenségének elve alapján a nem sugárzó és sugárzó ionok egyenletes eloszlása egyszerű és természetes folyamat. A behatóbb vizsgálatok azonban azt is bebizonyították, hogy a szerves vegyületek jelzett atomjai, ill. jelzett atomot tartalmazó gyökei egyes esetekben kicserélődnek, másokban nem. Az izotópos kutatásoknál ezt a körülményt is gondosan figyelembe kell venni. Könnyen megállapítható, vajjon létrejön-e a csere a jelzett (P^{32} -es) foszfátgyököknél. Ha a vizsgálandó szerves foszfátot összerázzuk vízben oldott, jelzett szerves foszforsavas sóval, úgy az egyes elkülönített vegyületek aktivitásának (sugárzóképeségének) megmérése útján megállapíthatjuk, történ-e csere a szerves és a szerves foszfátgyökök között. Ilyen vizsgálatok bebizonyították, hogy nem folyik le csere a) hexóz monofoszfátok, b) lecitin és c) nukleinsavak esetében, viszont az ATP és a szerves pirofoszfát PO_4 gyökei között a csere létrejön. Hasonló módszerekkel megállapították, hogy a jelzett S atom nem cserélődik ki egyrészt a H_2S , másrészt a cisztein -SH gyöke és a tiokarbamid S gyöke közt, hasonlóképpen nincsen jelzett S atomcsere egyrészt a Na_2S , másrészt az SO_4 gyök között. Meglepő módon viszont gyorsan kicserélődik a jelzett jód-atom egyrészt a J_2 molekula, másrészt pedig a dijodtirozin között 4,3 pH-nál. A pH érték növekedésével a csere lassul, s 7,5 pH fölött teljesen megszűnik.

Külön kell megemlékeznünk a H és D atomok cseréjéről. Vizes oldatban kisebb-nagyobb sebességgel kicserélődik a D és a H egyrészt a víz, másrészt az alkoholos, karboxilos és fenolos OH gyökök, valamint az NH_2 gyök között (pl. aminosavak esetében). A cserét a következő kísérlettel szemléltethetjük. Ha pl. cukrot deutérium tartalmú (nehéz víz tartalmú) vízben oldunk, s az oldatot szárazra pároljuk, úgy a cukor—OH gyökei részben —OD gyökké alakulnak, a következő egyenlet szerint



A folyamat megfordítható, mert ha a deutérium tartalmú cukrot közönséges vízben oldjuk, s a vizes oldatot bepároljuk, akkor a folyamat az alsó nyíl irányában folyik le, s a cukor újból deutériummentes lesz, a D átmegy a vízbe, s a keletkezett nehézvíz elpárolog. Ezzel szemben a C—H kötés stabilnak bizonyult, ilyen kötésű H nem cserélődik be D-re, ill. a C—D kötésbeli D egyszerű fizikai úton nem cserélhető be H-re. Kivételt képez a karbonil gyök melletti C—H kötés, mert ilyen esetben enolizáció folytán O—H gyök keletkezhet,



s az —OH gyök H-je a fentiek szerint kicserélődhet. A felhozott néhány példa is bizonyítja, hogy az izotópos kutatásoknál rendkívüli körültekintéssel kell eljárni. A módszer igen sok hibaforrást csak az utolsó 5—10 évben tárták fel, s a vizsgálati módszerek tökéletesítése mindig újabb és újabb hibaforrások felfedezéséhez vezet. Az izotópos kutatásokkal foglalkozó szakemberek egy részének ezért az a véleménye, hogy az izotópos módszerek alkalmazása csak akkor célszerű, ha más módon feladatunk vagy egyáltalán nem, vagy csak nagyon körülményesen oldható meg, ill. a régebbi módszerek határozott következtetések levonására nem alkalmasak.

A következőkben, mielőtt a növénybiokémiai kutatások tárgyalásába belemennénk, néhány általános biológiai problémának izotópos módszerrel való megoldásáról fogunk röviden tárgyalni.

A biológiának régi és ma is akut problémája annak a megállapítása, hogy valamilyen adott egyensúlyi helyzet statikus-e (az anyagok stabil állapotán alapul-e), vagy pedig dinamikus, azaz állandó, de egyenletes változás eredménye-e? Ma ugyan minden esetben állandó mozgást tételezünk fel, azaz a dinamikus egyensúly álláspontját tételezzük fel, ezt azonban minden egyes esetben be is kell bizonyítani. Régi megfigyelés, hogy míg a vérszérumban levés K-ion

mellett főleg Na-ionokat találunk, addig a vörösvértessékben a K a domináló. Régebben ebből azt a következtetést vonták le, hogy a vörösvértessék a káliumot erősen köti (nem bocsátják ki). K^{42} -es és Na^{24} -es izotópokkal viszont kétséget kizárólag bebizonyították, hogy az egyensúly dinamikus, s úgy jön létre, hogy a kétféle ion állandó sebességgel cserélődik a vérplazma és a vértest között, s ezáltal a statikus állapot látszatát adja. Hasonlóképpen alapvetően fontos problémája volt a biológiának az a kérdés is, hogy mennyi az élő szervezetekben az egyes vegyületek élettartama. Vajon az egyes tartalékoló szövetekben lerakódott tartalékanyagok, pl. az állati zsírsavak mennyire stabilok. Schoenheimer és munkatársai (1935—1941) izotópos módszerrel bizonyították, hogy a zsírsavak zsírsavai magasabbrendű állatoknál 5—6 nap alatt kerek 50%-ban kicserélődnek, azaz a depózsír felezési ideje 5—6 nap. Újabb vizsgálatok arra mutatnak, hogy a különféle élő szervezetek sejtjeiben (állati és növényi szervezeteknél egyaránt) az egyes granuláris zsírsavak hasonló, vagy még rövidebb idő alatt épülnek mind újra és újra át. Ugyancsak Schoenheimer és munkatársai bizonyították be (1941—42) N és C izotópos kísérletekkel, hogy a fehérjék élettartama is erősen korlátozott az élő szervezetekben. Ezek a kísérletek elsősorban állati szervezetekkel folytak, de eredményeiket később növényi szervezetekre vonatkozólag is igazolták. Egész természetes, hogy legrövidebb életűek a magasabbrendű állatok plazmafehérjéi, amelyek felezési ideje átlagosan 7 nap. A fehérjék felújulása, az egyes molekulák átcserélődése, amelyet a magyar szakirodalomban is gyakran neveznek az angolszász szakkifejezést alkalmazva „turnover”-nek, a szerkezeti fehérjéknél (pl. az izomfehérjéknél) már lassúbb, s leglassúbb a turnover a hemoglobinnál, amelynek 1 nap alatt csak 2,5%-a cserélődik ki. Érdekes módon a növények fehérjeállománya sokkal gyorsabban épül át. Turesin kísérletei szerint (1954) a rozs vegetatív fejlődési fázisa során a legtöbb fehérje élettartama mindössze pár óra, s nagyon meglepő, hogy a viszonylag stabilnak feltehető klorofil pirrol-gyűrűinek felezési ideje is mindössze 2—3 nap.

Minthogy speciális állatfiziológiai kérdés, csak röviden utalunk arra, hogy N^{15} -ös izotóppal, valamint a szénhidrogénláncba beépített D atomokkal igazolta Ratner, Rittenberg és Schoenheimer (1941—1944), hogy 8-féle aminosavat (a „nélkülözhetetlen” aminosavakat) a magasabbrendű állati szervezet felépíteni nem tud, s így azokat a táplálékkal kell felvennie. Általános biológiai jelentőségű viszont a zsírsavak felépítési mechanizmusának problémája. Knop béta-oxidációs elmélete alapján általánosan feltételezték, hogy a zsírsavak ecetsav molekulák kondenzációja útján épülnek fel. Rittenberg 1945-ben igazolta, hogy a szerve-

zetbe kerülő $\text{CH}_3\text{—C}^{13}\text{OOH}$ -ból olyan nagyobb szénatomszámú zsírsavak keletkeznek, amelyeknél minden második C-atom ^{13}C -as atomsúlyú: $\text{CH}_3\text{—C}^{13}\text{H}_2\text{—CH}_2\text{—C}^{13}\text{H}_2\text{—CH}_2\text{—...C}^{13}\text{OOH}$ s ezzel egyben a béta-oxidáció elméletének a helyességét is igazolta.

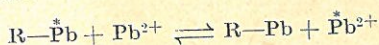
Az izotópos kutatások szerepe a növényi fiziológiában, ill. biokémiában

Hevesy [17] 1923 évi kísérlete óta ennek a kérdésnek olyan tekintélyesre gyarapodott az irodalma, hogy a következőkben — a teljes ségre való törekvés teljes feladásával — csak néhány különösen jelentős és érdekes kísérleti eredményre kívánunk rámutatni.

A) A növények táplálékfelvételével kapcsolatos kísérletek

A növénytáplálkozási kísérletek kezdetén a sók gyökéren keresztüli felvételét teljesen passzív folyamatnak tartották, amelyet egyedül a talajoldat és a sejtoldat közötti ozmotikus koncentrációkülönbség szab meg, s ehhez egyedül a növények vízellátottsága járul hozzá a transpirációs folyamat segítségével. Később kiderült, hogy a növény a talajoldatban található sók, ill. ionok között válogatni, szelektálni tud. Ennek magyarázatára a különféle permeabilitási elméletek nem voltak elegendők, még a Donnan-egyensúly okozta eltolódás sem. Az a körülmény, hogy a fotoszintézis közvetlen korrelációba volt hozható a só-, ill. ionfelvétellel, vezetett arra az elgondolásra, hogy a sófelvétel és az anyagszerezefolyamatok között közvetlen kapcsolatnak kell fennállania.

Az első izotópos kísérletek azután bebizonyították, hogy a felvétel maga is két lépésre osztható. Az első a felületen való megkötődés, ill. ionszere, a második lépésben történik a sejt belsejébe való belépés. Hevesy [17] 1923-ban sugárzó Pb izotóp sóoldatba mártotta a Vicia faba gyökerét. A gyökér a Pb-ot felvette, s ha ezután nem sugárzó Pb-sóoldatba mártotta a gyökeret, azt tapasztalta, hogy a sugárzó anyag elég gyorsan megszűnik a gyökér és a külső sóoldat között, egyszerű fizikai ionszere útján. (Az alábbi egyenletben a gyökeret a latin radikális szó után R betűvel jelöljük s úgy itt, mint a következő egyenletekben a sugárzó izotópot csillaggal jelöljük meg. A folyamat vázlatát tehát a következő volt:



Ebből a kísérletből Hevesy azt a következtetést vonta le, hogy a felvett Pb-atom nem lépett kapcsolatba a sejt szerves anyagaival. Lark—Horovitz [26] (1929) később azt találta, hogy a Pb nem lép be egykönnyen az élő sejt belsejébe, előlt gyökér sejtjeibe viszont könnyen behatol. Jenny [21] jóval később (1939)

megismételte a kísérletet Pb-mal és K sókkal. Azt találta, hogy 24 óra alatt a sugárzó ólom-ionok egyenletesen oszlottak meg (egyensúlyba kerültek), a gyökér és a külső oldat között, a K-ionok ennyi idő alatt csak 10%-os arányban cserélődtek ki. Brooks (1937—1940) megvizsgálta [7, 9] a K-nak a citoplazmán keresztül a vakuolába való permeálását, s azt találta, hogy az egyes proteinkomponensekkel volt összefüggésben, s az anyagszere intenzitásától függött. Overstreet és Jackson (1946) megállapításai szerint [33] árpagyökér Rb^{86} felvétele gyorsan határértéket ér el, míg a P^{32}O_4 felvétel folyamatos. Az Sr^{85} és J^{131} felvételében gyakorlatilag csak a gyökérnek a gyökércsúcsától néhány mm távolságig erő része vesz részt, 20 perc alatt a sugárzó Rb-ot a gyökér a nem sugárzó azonos ionnal 80%-ban, J-ot 30%-ban, PO_4 -ot csak 15%-ban cserél ki, míg az előlt gyökerek esetében a kicserélődés mindhárom ionnál gyorsan bekövetkezik. Mindezek alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a felvétel első lépése a felületi megkötés, mégpedig főleg ionszere útján. A gyökér felszínén ionkötő anyagok vannak, mégpedig túlnyomólag pozitív ionokat kötő helyek (negatív töltésű helyek), de kisebb mennyiségben negatív ionokat, anionokat kötő helyek is (pozitív töltésű helyek). Ezzel pontosan egyezik az a megállapítás, hogy a növények gyökérfelületének pH-ja valószínűleg 3,5 és 4,5 között van (ez az oka, hogy 3,5 pH-nál savanyúbb talajokon a növények nem tudván táplálkozni, elpusztulnak).

Ezek a vizsgálatok alapult jórészt Burström, Hoagland és Lundegårdh [41] elmélete, amely a felvétel második lépését, a sejtbe való behatolást, anyagszerezefolyamatokhoz köti (anion- és kationlégzés, 1940—1953), ez lenne az ún. aktív permeabilitás magyarázata. Döntő bizonyítékot szolgáltatott erre Hoagland és Broyer [18] néhány kísérlete, amely szerint az oxidációs folyamatokat gátló körülmények (cianidok kezelése, metilénkék, anaerob viszonyok) a gyökerek sófelvételét erősen lenyomják, ill. megszüntetik. Sugárzó izotópokkal azt is megállapították, hogy ilyen körülmények között — ha nincs gyökérlégzés — a gyökérsejtek vakuoláiban sófelhalmozódás nem következik be.

A fenti vizsgálatok egyben azt is megmagyarázzák, hogy ha a növénynek több hasonló ion áll rendelkezésére, úgy szelektálni nem tud, hanem, mint Noack mondja, elektál, mert a hasonló jellegű ionok a felületi megkötő helyekért versengenek. Így Na-ionok bőséges jelenléte a K-ionok felvételét csökkenti, a NO_3 -ionok jelenléte a PO_4 -ionok felvételét gátolja (Scharer, Kúthy, 1955) stb.

Az izotópok adtak lehetőséget a kontakttáplálékfelvétel elméletének felállítására is. Jenny, Overstreet és Ayers (1939) bebizonyították [20], hogy a régi felfogás, amely szerint a talaj báziskicszerelő kolloid rendszere a talaj-

oldaton keresztül tarthat csak egyensúlyt a növény gyökérfelület-kolloid rendszerrel, nem elégséges a növények táplálékfelvételének minden esetben való megmagyarázására. Ha a talaj-kolloid és a gyökérkolloid diffúz ionoszférája egymásba nyúlik, úgy lehetőség van arra, hogy az ionok a talajkolloidokról közvetlenül a gyökérkolloidokra „ugorjanak” át, a talajoldat közbeiktatása nélkül („kontakt” elmélet). Overstreet, Broyer, Isaacs és Delwiche (1942) azután bebizonyították, hogy a gyökérfelület H-ionjai, amelyek a kationok kicserélésére szolgálnak, túlnyomórészt nem a szénsavból származnak, hanem a növény által szintetizált szerves savakból [32]. Ezek szerint tehát a táplálékfelvétel első lépése, a kationoknak a felületi megkötése sem passzív, ill. egyszerű fizikai folyamat, hanem szoros korrelációban áll az anyagszerével.

B) A tápláléanyagok szállítása és az anyagszeráfolyamatok vizsgálata izotóp kísérletekkel

Az előzőekben igazolódott, hogy a tényleges táplálékfelvétel, a tápláléanyagoknak a sejtek belsejébe való bejutása aktív permeálás, azaz anyagszeráfolyamatokkal kapcsolatos, energia felhasználással jár. A gyökerek ionokat tudnak ugyan leadni a környező tápláléoldatba, de a K-ionok pl. alig lépnek ki desztillált vízbe, s mindig a legfrissebben felvett ionok leadása megy végbe a legkönnyebben (Brooks [8], 1939, Mullins [29] 1941). Aulins (1942), Nickerson és Mullins (1948) kísérletei szerint [30], az élesztő PO_4 felvétele teljesen a szénhidrátanyagszeráfolyamata függvénye. Ha az élesztő szuszpenzió tápláléoldata foszfát-ionok mellett glükózt és még riboflavint is tartalmazott, úgy az élesztő foszfát felvétele 20–200%-kal volt nagyobb, mintha a tápláléoldatból a riboflavin hiányzott. Megállapították, hogy a sejtek felületén PO_4 komplex képző faktor van, a felületi megkötés pedig, mint fent megállapítottuk, magában még nem jelenti a tápláléanyag felvételét. Hasonló megállapításra, a foszfát-ionok adszorpciós megkötődésére jutottak gazdasági növényekkel végzett kísérletek során is. Az adszorpciós megkötés az izotópos kísérletek komoly hibaforrása lehet. Hasonló eredményekre jutott Scheffer is (1952). Ha élesztőt NaCl és KCl tartalmú oldatban szuszpendált, s egy darabig éhezettette, majd az oldatba 0,3% glükózt vitt, úgy az élesztő légzésintenzitása megnőtt, s az oldatban a K-ionok koncentrációja csökkent, míg a Na-ionoké megnőtt. A glükóz elfogyásával a légzés intenzitása erősen csökkent, egyidejűleg a K-ion koncentráció az oldatban megnőtt, a Na-koncentráció pedig csökkent. A légzés során tehát az élesztő K-ionokat vett fel és Na-ionokat adott le, a légzés megszüntekor viszont a fordított irányú folyamat zajlott le. Scheffer egyidejűleg a következő zabkísérletet végezte el. A zab csíranövény gyökereit két kémcső között osztotta meg,

amelyek közül az (1) sz. sok K és sok Na iont, a (2) sz. pedig kevés Na-ot és kevés K-ot tartalmazott. Gyenge (diffúz) fénnel való megvilágításnál az (1) sz. edényből a zab K- és Na-iont egyaránt felvett és leadta a (2) sz. edénybe (az ionkoncentráció kiegyenlítésére törekedett tehát a zab, amint Barbier szerint a magasabbrendű növények a talajban a foszfátok egyenletes megoszlását hozzák létre). Erős megvilágításra a zabnövényke az (1) edényből a K-ionokat gyorsan, a Na-ionokat lassan felvette, s a (2) edénybe kevés N-iont adott le. Ha utána a zabnövénykét a fénytől teljesen elzárta, úgy az (1) edényben az ionok koncentrációja nem változott, viszont a (2) sz. oldatba egyaránt K- és Na-ionokat bocsátott a gyökér ki. A kísérlet egyben azt is igazolja, hogy egyrészt a magasabbrendű növények gyökérrendszere rendkívül alkalmazkodóképes, másrészt pedig azt, hogy az egyes gyökerek a száron keresztül közvetlen vezető kapcsolatban állanak egymással. Végül csak röviden utalunk arra, hogy a vörös vértesteken már régen megfigyelték, hogy glükózfelvételnél egyben K-ionokat is vesznek fel, s a glükolízisnél K-ionokat adnak le, az élesztőnél és a zab csíranövényénél megfigyelt jelenség tökéletes analógiájaként. Egyébként Rivie és Tóth (1952) paradicsomgyökéren teljesen hasonló megfigyelést végeztek, a Ca^{45} a gyökérszert egyik részéből átment a másikba, ill. az egyik gyökérrészt tartalmazó tápláléoldatból a másik gyökérrészt tartalmazó tápláléoldatba. Egyezik ez a megállapítás Ratner (1954) azon megfigyelésével is, hogy ha a növény gyökérszertének csak kis része érintkezik a granulált foszfortrágyával, úgy a növény PO_4 -igénye kielégítésére ezen gyökérrész P-feltevő képessége a normális érték 20–30-szorosára növekszik.

Általánosan ismert, hogy a növények táplálékfelvő képessége, a maximális táplálékigény időpontja (a fiziológiai fejlődéshez viszonyítva) örökletes faji, ill. fajtatulajdonság. A táplálékfelvételt ezen túlmenőleg a növényi szövet előlétele, tápláléanyaggal való ellátottsága is befolyásolja. Így Broyer [10] kísérletei szerint (1950) alacsony hőmérsékleten (az anyagszeráfolyamata mérsékelt intenzitása esetén), ha a gyökérszövetben sok az előző táplálékozási folyamatok révén a só, akkor az ún. kicserélődési felvétel dominál, míg ha kevés a gyökérszövetben a sótartalom, úgy az ún. anyagszeráfelvétel uralkodik. Ha sok a szövetben a só, úgy a sók (ionok) útja a vakuolán át vezet a xilémbé, míg ha kevés a sótartalom, úgy a protoplazmanyúlványokon át jutnak el a xilémbé, a vakuolák megkerülésével. Nyilván ezzel magyarázható az a megfigyelés is, hogy ha a $P^{32}O_4$ -táplálékot a fiziológiai fejlődés kezdeti és középső szakaszában adjuk a növénynek a gyökéren át, úgy az elsősorban a termésben, azután a levélben és a szárbán halmozódik fel, míg a késői szakaszban adott foszfát a gyökérben

marad. Ennek csak egy kísérleti adat mondellent, Jacobson [19] 1948. évi közleménye. Szerinte a kukorica magja akkor tartalmaz legtöbb foszfátot (a vizsgálatot takarmányozási kísérletek céljaira $P^{32}O_4$ -tal végezte), ha a foszfáttáplálékot a korai teljes érés időpontjában juttatta a gyökérhez. Általános megállapítás szerint fiatal növényeknél a foszfát és a K a legfiatalabb, a merisztémás régiókban koncentráldók. Ezt tapasztalta Russell, Sanders és Bishop [37] árpánál (1949), Gericke sok, egymással nem rokon gazdasági növénynél (1955), s ezt tapasztalta Schönnamsgruber (1956) fiatal nyárfánál, ahol az aktivitás a legmagasabb, legfiatalabb levelekben volt a legerősebb. Érdekes ennél a kísérletsorozatnál a napi ingadozások megfigyelése. A legnagyobb aktivitást szerző a délutáni órákban mérte, közepes magasságban fekvő leveleknél (16—18 óra közt), ami arra mutat, hogy a nappali órákban a foszfát felfelé, az éjszakai órákban pedig lefelé vándorol (a gyökér felé). A P-felvételben az egyes fajták között jelentős különbségek mutatkoztak. Ezek a vizsgálatok teljes egészükben megerősítik Magnickij és Malkov 1952. évi tapasztalatait, amelyek szerint a növény egészének P-tartalma napszakonként ingadozik, legnagyobb a kora délelőtti órákban és legkisebb az éjszakai órákban.

Régi problémája a növényi fiziológiának, hogy vajon az egyes táplálékanyagok melyik úton, a xilémen, ill. a floemen át haladnak-e felfelé, ill. lefelé. A régi felfogás szerint a felfelé áramlás útja a xilémen, a lefelé haladás útja a floem. Stout és Hoagland (1939) sugárzó K, Na, P és Br izotópokkal azt tapasztalták, hogy ezek a xilémen haladnak fel a gyökérből a levelekbe [39]. A xilémen és floem érintkezése esetén azonban egyik rendszerből könnyen és gyorsan átjuthattak a másikba. Gustafson (1939) azt tapasztalta [14], hogy a PO_4 -ion normális körülmények között is, legalább kis részben, a floemen át is haladhat felfelé. Hasonló eredményre jutott Na-sókkal kapcsolatban Nisina és Nakayama [31] is (1938). Biddulph [4, 6] és munkatársai (1938—44) a foszfát floemen át való lefelé vándorlását megvizsgálták, a foszfát-oldatot a levelek vénájába injiciálták. Megállapították, hogy a lefelé haladás sebessége legalább 20 cm óránként, valamint azt is, hogy a foszfát a floemben részben felfelé is vándorolt. Bledsoe, Comar és Harris szerint (1949) a gyökér által felvett Ca azért nem jut el kellő mennyiségben a termésbe (Ca^{45} -ös vizsgálatok), mert míg a xilémben való mozgása elég gyors, addig a floemben igen lassan mozog. Ez a magyarázata nyilván annak is, hogy az idős levelek C-tartalma viszonylag igen jelentős, mert a levelek táplálékanyagainak a termés felé áramlásakor a levélből a floemen át kell a Ca-nak vándorolnia. Biddulph szerint (1953) bab esetében a Ca teljesen floem-immobil. Arnon, Stout és

Sipos [1] szerint (1940) a foszfát a táplálékoldatból igen gyorsan felvevődik a paradicsomban (vízkultúrában), a 120 cm magas növény-csúcsot 40 perc alatt eléri. Bloom és munkatársai kísérletei (1944) azt bizonyítják, hogy a P-szegény növény gyorsabban veszi fel a foszfátot, mint a P-ban gazdag, ennek ellenére a különféle szerves P-vegyületek aránya P-ral bőven és gyéren ellátott növényben azonos, bár a bőségesebb P-ellátás esetében a szerves foszfátok szintézise gyorsabban lefolyik. Már említettük, hogy a hasonló jellegű ionok, a felvevő (megkötési) helyért való konkurrencia folytán egymás felvételét zavarják. Így ismert, hogy a NO_3 -ionok a PO_4 -ionok felvételét bizonyos mértékig zavarják. Ezt igazolták Scharrer kísérletei (1955), valamint intézetünk 1948. és 1955. évi kukoricakísérletei is. Bloom szerint a karbamid viszont a foszfátok felvételét elősegíti.

Leonard és Tóth [27] Na^{22} -es kísérletei szerint (1950) a Na a növények vezető szövegeiben található legnagyobb koncentrációban. Millikan [28] Mn^{45} -nal végzett vizsgálatai arra az eredményre vezettek (1951), hogy a növény leveleinek kiszáradásakor a Mn az erek közüli területéről az erekbe vándorol. Ez a megállapítás azért érdekes többek között, mert arra mutat, hogy a Mn-meghatározást friss levélszövetben kell elvégezni, másrészt pedig elképzelhető, hogy a száraz levelek radiografijánál nemcsak a Mn, hanem egyéb ionok elhelyezkedésére, ill. eloszlására vonatkozólag is hamis képet kaphatunk. A kén anyagcserejével kapcsolatos munkák azt bizonyítják, hogy a gyökéren át Na_2SO_4 alakjában adott S 8—10 napon belül maximális koncentrációt ér el a levelekben. Úgy látszik, hogy a K-hoz és a foszforhoz hasonlóan a legfiatalabb, legélénkebb anyagcserejű helyeken, pl. a levélcsúcsokon koncentráldók, legalább is a gabonánál, bár a teljes érsékor a maximum búzánál a magban alakul ki, mégpedig az endosperm perifériás részein, ill. az aleuron rétegben. Kukorica esetében a teljes érést megelőző időpontban a maximális koncentrációt a csőborító levelek érik el (Harrison, Thomas és Hill [16] 1944). Ezzel szemben a gyökér által felvett Zn legnagyobb része a gyökérben marad, legkisebb a Zn-koncentráció az idős levelekben. A gyökérben a Zn valószínűleg proteinhez kötődik jórészt, ezért válik immobilá, mert míg a gyökér Zn-tartalmának 77%-a oldhatatlan, addig a földfeletti rész Zn-állományának 65—85%-a hideg vízben is oldható (Bergh [3] 1951. évi Zn^{65} -ös kísérletei).

Sok esetben igen hasznosnak bizonyult két „jelző” sugárzó vagy nem sugárzó izotóp egyidejű alkalmazása. Rabideau és Burr [34] (1945) egyidejűleg alkalmazott P^{32} -es foszfátot és C^{13} -as CO_2 -ot. Azt találták, hogy a fotoszintézis termékei (a foszfáttal együtt) gyorsan mozogtak felfelé és lefelé, a szár és levél, ill. a gyökércsúcsok élénk anyagcserejük helyei

felé. Chen [12] geránium egyik levélszintjével $C^{14}O_2$ -ot asszimiláltatott, a másik levélszinten $P^{32}O_4$ -ot vitt be az érbe. A kétféle termék egymással szemben vándorolt (egyik levélszintről a másikba) a floemen keresztül. Bro-yer és Hoagland [11] különféle sugárzó izotópokat tartalmazó kationokat és anionokat a gyökéren át egyidejűleg adagolva azt találta, a gyökérből a hajtásba való vándorlást jelentős transpirációkülönbségek is csak alig-alig befolyásolták. A sómozgás gátlása jelentősebb mértékben csak akkor jelentkezett, ha a transpirációt egészen minimális mértékre szorították le. Ez annyit jelentene, hogy a transpirációs áram elősegíti ugyan a táplálóanyagoknak a gyökérből a hajtás felé áramlását, de közel sem az egyetlenlen döntő tényező. Hanson és Biddulph [15] a Rb és a PO_4 szállítását vizsgálva babon, azt találták, hogy a transzportálás délből éri el a maximumot és éjjelkor jelentkezik a minimum. Erre a faktorra addicionálódik a gyökér anyagszere állapota, ill. a lefelé való áramlás mértéke. A gyökér akkor szállítja a maximális sómennyiséget felfelé, ha a levélből a maximális anyagszerterméket kapja. Biddulph és munkatársai vizsgálatai végül a következő eredményeket adták (1951—53). A PO_4 és a Fe felvétele; ill. szállítása egymást kölcsönösen befolyásolja. Babban a Fe mozgékonyasága csaknem teljesen bénítva van, ha a táplálóoldatban igen sok relatíve a PO_4 és az oldat 7,0 pH-nál lúgosabb. Könnyen floemmozgékonyvá válik a vas (a levélbe injiciált gyorsan lejut egészen a gyökércsúcsig), ha a növényben kevés a PO_4 -ion és a táplálóoldat savanyú (4 és 5 pH között). Az egyes táplálóanyagok közül kitűnően mozoghat a floemben a P és az S, feltételesen mozgékony a Fe és a Zn, s gyakorlatilag teljesen immobil a Ca. Sideris [38] szerint (1950) a Mn a vas felvételét és mozgását jelentős mértékben zavarja. Ha a táplálóoldatban (vagy a talajban) bizonyos minimális mennyiségű Mn-nál több van, úgy a felvett Fe jelentős része a gyökérben fixálódik, csak igen kis töredéke jut fel a hajtásba. A hajtásba kerülő Fe jórészt fehérjékhez kötődik.

Rendkívül érdekesek az Ukrán SzSzR. tudományos akadémiája kievi növényfiziológiai intézetének sokoldalú izotóp kísérletei, melyekből — kellő hely hiányában — csak néhány különösen érdekes eredményt ismertetünk. Vlaszjuk [42] és Koszmatüj (1955) a fehérje bioszintézisét vizsgálta lóherén sugárzó P és S izotópok segítségével. A vizsgálatokból kiderült, hogy a szuperfoszfát sokáig ballaszt-nak tekintett $CaSO_4$ -tartalma igen értékes növényi táplálék, mert a $CaSO_4$ nélküli, más foszfátrágyával szemben a szuperfoszfát SO_4 -tartalma jelentősen hozzájárult a lóhere fehérjetermeléséhez. A sugárzó P és S izotóp a lóhere minden egyes részébe eljut. Legtöbbet tartalmaz a levél, a levélnyél és a virág már kevesebbet. Vlaszjuk, Koszmatüj és Klimo-

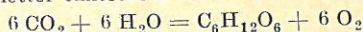
vickaja [42] szerint (1955) a növények a talajból CO_3 -iont (a vizsgálat C^{14} -gyel történt) csak akkor vesznek fel, ha a talaj semleges, vagy lúgos, savanyú talajból CO_3 -felvétel nincs. A felvett CO_3 éppen úgy résztvesz a szénhidrát anyagcserében, mint a fotoszintéziskor a levegőből felvett CO_2 . A különböző növények eltérő sebességgel veszik fel a $C^{14}O_3$ -at és a sugárzó szén felhalmozódása növényenként más és más szervben történik. Legtöbbet a cukorrépa vesz fel, s épp úgy mint a csillagfürt, elsősorban a gyökérben halmozza fel, míg a bab a szárban. A cukorrépa P-anyagcseréjét $P^{32}O_4$ útján vizsgálva, többek között azt találták, hogy a vízben oldható foszfátok, amelyek a növény többi P-vegyületeinek tartalékát képezik, koncentrációjuk elsősorban a sugárzó foszfátot. A nukleoproteidek és a foszfátidok anyagcseréje aránylag gyors, leglassúbb a fitiné. Mangán-izsapos trágyázás hatására a P^{32} beépülése a levelek foszfátidjaiba és a gyökér nukleoproteidjeibe meggyorsul. Hiányos P-ellátás esetében a sugárzó P izotóp a gyökérfoszfátidokban kisebb, a nukleoproteidokban nagyobb arányban halmozódik fel. Minthogy a nukleoproteidek a fehérjetermelésben (enzimtermelésben) alapvető szerepet játszanak, ez a megfigyelés könnyen megmagyarázható. Különösen érdekesek azok a vizsgálatok, amelyek kis ionizáló sugárdózisoknak (sugárzó izotópot tartalmazó növényi táplálóanyagoknak) hatását vizsgálják különféle gazdasági növényeken (Vlaszjuk, Koszmatüj, Klimovickaja és Grodzinszkij [42] 1955), részben a magvak vetés előtti kezelése, részben táplálóoldatba, részben talajbajuttatás (trágyázás) útján. A vetés előtti magkezelés P, Zn, S és Ca sugárzó izotópokkal a cukorrépa répatermését emelte és fokozta a gyökér cukortartalmát. A különféle növényeken a hatás különféle fiziológiai funkcióknál észlelhető. Így a P^{32} gyorsítja a tavaszi búza első levelének növekedését, Ca izotóp a gyökér adszorbeáló felületét kerek 10%-kal fokozza. A fotoszintézisre kedvezőtlen körülmények esetében (pl. túl alacsony hőmérsékleten), sugárzó izotóp a fotoszintézist erősíti. Ugyanolyan hatás elérésére egyes növényeknél nagy, másoknál már egészen csekély mennyiségű izotóp elegendő, azaz a növények érzékenysége nagyon eltérő az izotópok sugárzó hatásával szemben. Az eltérés abban is mutatkozik, hogy egyes növények egyes sugárzó izotóppal szemben negatív tropizmust mutatnak, a fehér mustár gyökere pl. sugárzó Ca-mal és Zn-kel szemben. Egyes esetekben a hatás egyes fiziológiai folyamatokra, ill. enzimes folyamatokra közvetlenül kimutatható. Így pl. kis sugárdózis az élesztőkultúrák légzését átmenetileg csökkenti (nagyobb gátolja), egyes szövetek jó-d-redukáló képessége kezdetben csökken, később megnő, egyes enzimek pl. a peroxidáz aktivitása kis sugárdózissal (a sugárzás típusától függően) jellegzetesen

megváltozik, stb. Szerzők tapasztalataik alapján nyomatékosan felhívják a figyelmet arra, hogy a stabil és a sugárzó izotópok fiziológiai és biokémiai hatása nem azonos, s a kísérleteknél erre, elsősorban a sugárzó anyag koncentrációjára, okvetlen figyelemmel kell lenni.

Krilov, Rukitin és Melnikov (1955) C^{14} -et vittek be az α -naftil ecetsav karboxilgyökébe. Minthogy ez a vegyület serkentő anyag (növekedést serkentő hormon), amelynek túlzott felhalmozódása esetén a növények növekedésének eltorzulása következhetne be, a növény a bevitt hormon feleslegétől úgy szabadul meg, hogy dekarboxilálja. A felszabaduló $C^{14}O_2$ a levegőben aránylag egyszerűen kimutatható. Különböző növények levelére $4\text{-}J^{14}\text{-fenoxi-ecetsavat}$ juttatva. fenti szerzők kimutatták hogy ez a herbicid a virágokban, ill. termésekben koncentrálódik. Hatására a táplálóanyagok „polarizációja” következik be, azaz a szervezet fokozott mértékben áramlanak az aszimiláták.

C) A fotoszintézis és a fotoszintézis termékeinek vizsgálata

Ruben, Randall, Kamen és Hyde [36] az izotóp kutatások elég korai szakaszában tisztázták a fotoszintézis egyik alapvető tényét. A lényeges kezdő folyamat az alábbi összevont egyenlettel tüntethető fel:



azaz a széndioxid és víz reakciójánál redukáltabb termék, cukor keletkezik és oxigén szabadul fel. Hosszú ideig vitatott volt, hogy az oxigén a CO_2 -ből, vagy a vízből származik-e? A kérdés az izotóp technikával aránylag egyszerűen megoldható volt. Ha a kísérletnél CO_3^{2-} -at alkalmaztak, akkor a gáztérben O_2^{18} molekulákat kimutatni nem lehetett, de H_2O^{18} alkalmazása esetén igen. Ebből közvetlenül és kétségtelenül következik, hogy a fotoszintézis első lépése a víz megbonnlása az elnyelt fotonok hatására: $2\text{H}_2\text{O} = 2\text{H}_2 + \text{O}_2$ s a második lépés a CO_2 redukciója. Az oxigén tehát a vízből származik.

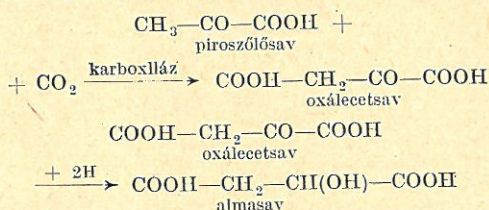
A következő megvizsgálandó kérdés az volt, hogyan történik a szénhidrátok felépítése, ill. melyek a fotoszintézis első termékei a sejten. A kérdés alapvető lépéseinek megoldása Calvin és Benson nevéhez fűződik (1948—49). A *Scenedesmus* alga fotoszintézisét vizsgálták, $C^{14}O_2$ segítségével. Különböző hosszúságú expozíciós idő (megvilágítás) eltelte után kétdimenziós kromatografiával megállapították, milyen vegyületek, milyen relatív mennyiségben keletkeznek.

45 mp-es expozíció után a keletkezett termékek kerek 70%-a 2-foszfoglicerinsav volt, a maradék kerek 30% megoszlott almasav és aszparaginsav között.

30 mp-es expozíció után a főtermékek 2-foszfoglicerinsav mellett piroszölösav, trióz-foszfát és hexóz monofoszfát, valamint glükolsav voltak, s a már első esetben kimutatott

aszparaginsav mellett glicerint és alanint is találtak.

90 mp-es expozíció után viszonylag sok foszfoglicerinsav mellett jelentős mennyiségű hexóz mono- és difoszfátot, glükolsavat, s elég sok almasavat és aszparaginsavat, s ezek mellett jóval kisebb mennyiségben triózfoszfátot, malonsavat, fumársavat, az aminosavak közül pedig aszparaginsav mellett glicint, alanint és szerint mutattak ki. Ezen kísérletek alapján épült fel az ismert Calvin—Benson fotoszintézis-ciklus, amely szerint a 2 és 3 szénatomos CO_2 -akceptor (valószínűleg glükolsav és foszfoglicerinsav) mindig újrakeletkezik a 3—7 szénatomos szénhidrátok, ill. közbeeső vegyületek molekuláiból. Újabban a moszkvai Kurszanov intézet (Kurszanov, Turkina, Dubina stb. 1951—1955) foglalkozott igen alaposan a fotoszintézis menetével és a szintézis termékeinek sorsával a zöld növényben. Az 5 évre terjedő kísérletnek itt csak néhány fontosabb eredményét ismertetjük. Kurszanov [23] bizonyította be, hogy a magasabbrendű növények nem csak a leveleik útján aszimilálhatják a CO_2 -ot, hanem a gyökereik útján is. Mégpedig nem csak az oldott CO_2 -ionokat, hanem a gázalakú CO_2 -ot is. $C^{14}O_2$ -dal, ill. $C^{14}O_3$ -tal végzett kísérletekkel megállapították, hogy a gyökér által felvett CO_2 a levélben termelt piroszölösavban kötődik meg a karboxiláz enzim hatására. A reakció a következő:



A felvett CO_2 tehát a karboxiláz hatására a piroszölösavval oxálecetsavat ad, ez pedig redukálódik almasavvá. A levélből tehát piroszölösav megy le a gyökérbe, a keletkezett almasav pedig visszakerül a levélbe és ott a megfordított Krebs—Szent-Györgyi körfolyamat útján szénhidrátokat szolgáltat.

Kurszanov [23] és munkatársai tisztázták a gyökér ammoniamegkötésének folyamatát is. A gyökérbe lekerülő oxálecetsav ammónia felvétellel és redukció útján elsősorban aszparaginsavat szolgáltat. Valószínű, hogy ez az aminosav a glutaminsav mellett az alapvegyülete a többi növényi aminosavnak is. 1953-ban Kurszanov munkatársaival 14 különféle aminosavat tudott kimutatni a gyökérből a hajtásba irányuló folyadékáramban. A ketosavak aminálásához jelentős mennyiségben szükség van foszfátokra is, hiányos P-ellátás esetén a gyökér fehérje, ill. aminosav termelése is hiányos. Nyilván itt az összefüggés a növények PO_4 - és NH_4 -ion felvétele közt.

Talán még érdekesebb Kurszanov és munkatársainak az a megállapítása (cukorrépa levélén végzett kísérletek alapján), hogy a magasabbrendű növény első szénhidrátja nem hexóz, hanem a szaharóz. Kísérleteik szerint a hexózok (glükóz és fruktóz) a szaharózbontás szekunder termékei (1953).

Turkina, Viszkrebenceva és Prisztun (1955) vizsgálatai szerint cukorrépánál és töknél a levélben szintetizált cukrok 70–100 cm/óra sebességgel áramlanak a gyökér felé, valamivel lassúbb a felfelé való áramlás a hajtáscsúcs és a termés felé, de a szerves vegyületek vándorlási sebessége itt is eléri a 40–60 cm/óra értéket. Összehasonlításként, Akromenko megállapítása szerint (1955) a víz emelkedési sebessége a fák törzsében 6–8 m/óra. A szállító úton mindig vegyületek vándorolnak, mégpedig a szénhidrátok a leggyorsabban vándorló szerves vegyületek, valamivel lassabban haladnak a szerves savak és leglassabban az aminosavak. A vándorló szénhidrátok a szaharóz, valamint a hexózok közül elsősorban a glükóz és a fruktóz. A hexózok valószínűleg mindig foszfát-észterek alakjában.

Már utaltunk arra, hogy a foszfátok és kationok vándorlási sebességét a növények vízellátottsága, ill. a transpiráció nagysága kevésbé befolyásolja. Úgy látszik, más a helyzet a szerves vegyületek szállításánál. Zsalkevics szerint (1955) az öntözött búza leveleiből az asimiláták sokkal gyorsabban eljutnak a termésbe, mint a vízzel szűkösen ellátott növények esetében. Érdekes összefüggést mutatott ki Zsubrickij a hőmérséklet és az asimiláták vándorlása között (1955). Hideg északi vidéken az asimiláták főleg a szárba és tenyésző csúcsba vándorolnak, a termésbe ill. gyökérbe vándorlás vontatottabb. A burgonya ezért északon buja szárnövekedést és kis terméseredményt mutat. Prokovjev kokszagiz levelével $C^{14}O_2$ -ot asimiláltatva bebizonyította, hogy a C^{14} először a levelek szaharózában koncentrálódik, majd később a latex kaucsukjában is kimutatható. A kaucsuk tehát a szénhidrátokból keletkezik. Ez a megfigyelés egyben azt is megmagyarázza, miért folytatódik a kaucsuktermelés a kokszagizban a betakarítás után is. Végül Pontovics és Prokovjev kísérletét említjük meg (1955), amelyben a mák C-körforgalmát vizsgálták C^{14} izotóppal. Kimutatták, hogy a fiatal termés légzése igen intenzív. A termés belső felületén igen sok CO_2 termelődik, s ez a termésfal zöld részébe vándorol, ahol fotoszintézis útján szénhidrátá alakul, s ez visszavándorol a termés belsejébe. A termés légzésekor fejlődő CO_2 tehát nem vész el, a termés maga saját értékesíti.

D) A növények táplálékfelvétele a levél útján

Ma már általánosan ismert, hogy a növények levélen keresztüli táplálását Prjanisnyikov intézetében Domontovics és Zseleznov kezdték vizsgálni, Prjanisnyikov kezdeményezésére. Bebiz-

nyították, hogy a növények különféle ionokat aránylag gyorsan fel tudnak venni, s azokat éppen úgy, ill. még nagyobb hatásokkal hasznosítják, mint a gyökéren át, ill. a talaj közbeiktatásával adott növényi táplálékokat. Mednizs, Mackov, Jakuskin és munkatársaik ezt a növénytáplálkozási módszert a gyakorlatba is átültették és ma a Szovjetunió területének jelentős részén folyik a levélen keresztüli növénytáplálás, a „permetező trágyázás”. Tanácsukunk 1951-ben az Agrokémiai Kutató Intézet Biokémiai Osztályával együtt fogott hozzá ennek a módszernek a kipróbálásához és ma már igen érdekes elméleti és gyakorlati eredményeket értünk el Magyarországon is [24]. Kb. 1952 óta ez a kérdés világviszonylatban is előtérbe került, s az izotóp kutatás lehetőségét adott arra is, hogy ennek a kérdésnek néhány alapelvét megvizsgálhassák. A következőkben az ezirányú izotóp kutatásokból csak egy-néhányat fogunk megemlíteni, amelyek általános növényfiziológiai szempontból már csak azért is érdekesek, mert a táplálóanyagoknak a floembe való juttatására ez az eljárás — a tápláléknak a levélen keresztül való felvétele — sokkal fiziológiásabb, mint a levélérbe való injicálás, ami a levelek működésének komoly zavarára is vezethet.

Wittwer és Lundahl [43] gyümölcsfákat (alma és körte) valamint különféle gazdasági növényeket (paradicsom, bab stb.) kezelték a leveleken keresztül híg, P^{32} -tartalmú foszfáttal. Minden esetben azt tapasztalták, hogy a foszfát rövid idő alatt eljut a növények minden egyes részébe, a termésbe és gyökércsúcsba egyaránt. Pár óra alatt a merisztémás régiókban az aktivitás (sugárzás) kimutatható volt. 48 órával a permetezés után a levélfelületre juttatott foszfát 5–6%-át a fejlődő paradicsombogyókban lehetett kimutatni. Leghatásosabbnak a foszforsavat találták, ezzel szemben Eggert, Kardos és Smith [13] almafánál a következő felvételi sorrendet találta: $(NH_4)_2PO_4$, $NH_4H_2PO_4$, Na_2HPO_4 , Na_3PO_4 és végül $Ca(H_2PO_4)_2$. Ez a sorrend 1955–57. évi kukoricakísérleteink eredményeivel teljesen egybevág [25]. Eggert és társai vizsgálata szerint a levélén át felvett foszfát fele a gyökérbe került (hiszen a levélén át a floembe jutott), legnagyobb koncentrációt a gyümölcshúsban és a magban találták. Lecat és Sose-Bourdonil (1952) vizsgálatai szerint P-szegény talajon termelt növények a levélén át adott foszfátot sokkal gyorsabban felveszik, mint a gyökéren át adott, akkor is, ha a táplálóanyag a gyökér aktív részének közvetlen közelébe kerül. Tukey, Tickner és Hinswork (1953) alma és körtefa esetében kimutatták, hogy a K-ionok is könnyen felvételnek és gyorsan elterjednek az egész növényben. Hasonló eredménnyel járt Bartha és Halász K-kísérlete is (1955).

Az utolsó 10 esztendőben a karbamid és különféle kondenzációs termékei előtérbe kerül-

tek a N-ellátás szempontjából. Karbamidot sok esetben próbáltak levélen át adni, abban a feltevésben, hogy nem lévén elektrolit, gyorsan felszívódik a levélbe, másrészt pedig azt várták, hogy a karbamidos kezelés nem fog nekrotikus hatást előidézni, mert a levélen keresztüli növénytáplálásnál sok esetben jelentkező szövetelhalást a hirtelen megnövekedő ionkoncentrációnak tudták be. Kiderült azonban, hogy a karbamid sok növény-nél már egészen kis koncentrációban is nekrotizist idézett elő. A tolerancia határa pl. uborkánál 0,3%, kukoricánál 0,4–0,6%, burgonyánál 0,8–1,4% volt Hinswork, Wittwer és Tukey kísérletei szerint (1953). Szerzők C^{14} -es karbamidot használva kimutatták, hogy a nekrotikus hatás annál erősebb, minél nagyobb a növény levelében az ureáz aktivitása. Az ureáz aktivitást úgy mérték, hogy zárt rendszerben mérték a felszabaduló $C^{14}O_2$ koncentrációját. Ez a kísérlet bebizonyította, hogy a karbamid káros hatása az ureázos hidrolíziskor felszabaduló ammóniának tudható be. Csak mellékesen említjük meg, hogy intézetünk kísérletei szerint a növények karbamidtűrő képessége a fenti

értékeknél általában nagyobb, s amint az éppen a nekrotikus hatás és az ureáz aktivitás összefüggéséből várható, a növényfaj mellett a növényfajtától és a növény (ill. levél) korától is függ.

Végezetül Thomas és munkatársai [40] sugárzó S-izotóppal végzett kísérleteit említjük meg. Ezekből kiderült (1944), hogy a növények a leveleiken keresztül jelentős mennyiségű gázalakú SO_2 -ot tudnak felvenni, s azt ugyanúgy hasznosítják, mint a gyökéren át felvett SO_2 -ot. A levélen át felvett SO_2 -kén igen gyorsan eloszlik az egész növényben. Ezzel kapcsolatban röviden csak egyetlen elméleti problémára szeretnénk rámutatni. A gyökéren át adott SO_2 - (ill. szulfit) kén toxikus, a levélen át adott nem. Ugyanez vonatkozik intézetünk kísérletei szerint a szulfid-kénre is. Ebben tehát a levélen keresztüli táplálkozás mégis csak eltér a gyökéren keresztüli táplálkozástól, amint hogy az a levél és a gyökérszövet anyagcseréje közt fennálló különbség folytán várható is.

KÚTHY SÁNDOR

Érkezett: 1957. szeptember 6.

Irodalom

- [1] Arnon, D. J., Stout, P. R. & Sipos F.: Radioactive phosphorus as an indicator of phosphorus absorption of tomato fruits at various stages of development. Amer. J. Bot. 27. 791–798. 1940.
- [2] Barnes, T. C. & Jahn, T. L.: Properties of water of biological interest. Quart. Rev. Biol. 90. 292–341. 1934.
- [3] Bergh, H.: Metabolism of zinc with radio- Zn^{65} , some investigation with radiozinc given to *Pisum s. saccharatum*. Kgl. Norske Videnskab. Selskab. Forh. 23. 123–126. 1952. Ref.: Chem. Abstr. 46. 3121. 1952.
- [4] Biddulph, O.: Movement of radio-phosphorus in bean seedlings. Science. 89. 393–394. 1939.
- [5] Biddulph, O.: Studies of mineral nutrition by use of tracers. Bot. Rev. 21. 251–295. 1955.
- [6] Biddulph, O. & Markle, J.: Translocation of radiophosphorus in the phloem of the cotton plant. Amer. J. Bot. 31. 65–70. 1944.
- [7] Brooks, S. C.: Selective accumulation with reference to ion exchange by the protoplasm. Trans. Farad. Soc. 33. 1002–1006. 1937.
- [8] Brooks, S. C.: Ion exchanges in accumulation and loss of certain ions by the living protoplasm of *Nitella*. J. Cell. Comp. Physiol. 14. 383–401. 1939.
- [9] Brooks, S. C.: The intake of radioactive isotopes by living cells. Cold Spring Harbor Symp. Quart. Biol. 8. 171–180. 1940.
- [10] Broyer, T. C.: Further observation on the absorption and translocation of inorganic solutes using radioactive isotopes with plants. Plant Physiol. 25. 367–376. 1950.
- [11] Broyer, T. C. & Hoagland, D. R.: Metabolic activities of roots and their bearing on the relation of upward movement of salts and water in plants. Amer. J. Bot. 30. 261–273. 1943.
- [12] Chen, S. L.: Simultaneous movement of P^{32} and C^{14} in opposite direction in phloem tissue. Amer. J. Bot. 38. 203–211. 1951.
- [13] Eggert, R., Kardos, L. T. & Smith, R. D.: The relative absorption of phosphorus by apple trees and fruits from foliar sprays, and from soil applications of fertilizer, using radioactive phosphorus as a tracer. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 60. 75–86. 1952.
- [14] Gustafson, F. G.: Upward transport of minerals through the phloem of stems. Science. 90. 306–307. 1939.
- [15] Hanson, J. B. & Biddulph, O.: The diurnal variation in the translocation of minerals across bean roots. Plant Physiol. 28. 356–370. 1953.

- [16] *Harrison, B. F., Thomas, U. D. & Hill, R. G.*: Radioautographs showing the distribution of sulfur in wheat. *Plant Physiol.* 19. 245—257. 1944.
- [17] *Hevesy, G.*: The absorption and translocation of lead by plants. *Biochem. J.* 17. 439—445. 1923.
- [18] *Hoagland, D. R. & Broyer, T. C.*: Accumulation of salt and permeability in plant cells. *J. Gen. Physiol.* 25. 865—880. 1942.
- [19] *Jacobson, H. G. M.*: A technique for introducing radioactive phosphorus into the grain of growing corn. *Plant Physiol.* 23. 636—637. 1947.
- [20] *Jenny, H., Overstreet, R. & Ayers, A. D.*: Contact depletion of barley roots as revealed by radioactive indicators. *Soil Sci.* 48. 9—23. 1939.
- [21] *Jenny, H. & Overstreet, R.*: Surface migration of ion and contact exchange. *J. Phys. Chem.* 43. 1185—1196. 1939.
- [22] *Kurszanov, A. L.*: Circulation de matières organiques dans la plante et action du système racinaire. VIII. Internat. Congrès Botanique. Paris. 1955.
- [23] *Kurszanov, A. L.*: A rádióaktív izotópok alkalmazása a szovjet biológiában és mezőgazdaságban. Moszkva. 1955.
- [24] *Kúthy, S.*: A permetező trágyázás problémái és magyarországi tapasztalatai. *Magyar Tud. Akad. Agrártud. Oszt. Közl.* 9. 217—235. 1956.
- [25] *Kúthy, S.*: Probleme der Phosphatdüngung in Ungarn. *Die Phosphorsäure.* 16. 217—227. 1956.
- [26] *Lark-Horovitz, K.*: A permeability test with radioactive indicators. *Nature.* 123. 277. 1929.
- [27] *Leonard, C. D. & Tóth, S. J.*: Plant studies with radioactive sodium. *Agron. J.* 42. 469—474. 1950.
- [28] *Millikan, C. R.*: Radioautographs of manganese in plants. *Austral. J. Sci. Res.* B4. 28—41. (Ref.: *Chem. Abstr.* 45. 4787. 1951.
- [29] *Mullins, L. J.*: Ionic equilibria in Nitella protoplasm. *J. Cell. Comp. Physiol.* 18. 161—172. 1941.
- [30] *Nickerson, W. J. & Mullins, L. J.*: Riboflavin enhancement of radioactive phosphate exchange by yeasts. *Nature.* 161. 939—940. 1948.
- [31] *Nisina, J. & Nakayama, H.*: Absorption and translocation of sodium in the plant. *Sci. Pap. Inst. Phy. Chem. Res. (Tokyo).* 34. 1635—1642. 1938.
- [32] *Overstreet, R., Broyer, T. C., Isaacs, T. L. & Delwiche, C. C.*: Additional studies regarding the cation absorption mechanism of plants in soil. *Amer. J. Bot.* 29. 227—231. 1942.
- [33] *Overstreet, R. & Jackson, L.*: The absorption by roots of rubidium and phosphate ions at extremely small concentrations as revealed by experiments with Rb^{86} and P^{32} prepared without inert carrier. *Amer. J. Bot.* 33. 107—112. 1946.
- [34] *Rabideau, G. S. & Burr, G. O.*: The use of C^{13} isotope as a tracer for transport studies in plants. *Amer. J. Bot.* 32. 349—356. 1945.
- [35] *Rabinovich, E. A.*: Photosynthesis and related processes. 1. 10. 1945.
- [36] *Ruben, S., Randall, M., Kamen, M. & Hyde, J. L.*: Heavy oxygen (O^{18}) as a tracer in the study of photosynthesis. *J. Amer. Chem. Soc.* 63. 877—879. 1941.
- [37] *Russell, R., Sanders, F. K. & Bishop, O. N.*: Preparation of radioautographs to show distribution of P^{32} in plant tissues. *Nature.* 163. 639—640. 1949.
- [38] *Sideris, C. P.*: Manganese interference in the absorption and translocation of radioactive iron (Fe^{59}) in *Ananas comosus*. *Plant Physiol.* 25. 307—321. 1950.
- [39] *Stout, P. R. & Hoagland, D. R.*: Upward and lateral movement of salt in certain plants as indicated of potassium, sodium and phosphorus absorbed by roots. *Amer. J. Bot.* 26. 326—324. 1939.
- [40] *Thomas, M. D., Hendricks, R. H., Bryner, L. C. & Hill, G. R.*: A study of the sulphur metabolism of wheat, barley and corn using radioactive sulphur. *Plant Physiol.* 19. 227—244. 1944.
- [41] *Truog, E.*: Mineral nutrition of plants. University Wisconsin Press. 1951.
- [42] *Vlaszjuk, P. A.*: Fiziologija pitaniye rastenij. Ukrán SSR. Tud. Akad. Kiev. 1955.
- [43] *Wittwer, S. H. & Lundahl, W. S.*: Autoradiography as an aid in determining the gross absorption and utilization of foliar applied nutrients. *Plant Physiol.* 26. 792—797. 1951.